Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer
und der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski

KONZENTRATIONSBESTIMMUNGEN DER METABOLITE CITRAT, ISOCITRAT UND α–KETOGLUTARAT DES CITRATCYCLUS BEI CHOLECYSTEKTOMIE, BZW. HERNIOTOMIE UNTER HALOTHANNARKOSE UND INTRAOPERATIVER KALIUM–MAGNESIUM–ASPARTAT–INFUSION

INAUGURAL–DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
CHRISTOPH - EKKEHARD GRAPE

1978

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523707_0023

Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer
und der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski

KONZENTRATIONSBESTIMMUNGEN DER METABOLITE CITRAT, ISOCITRAT UND α–KETOGLUTARAT DES CITRATCYCLUS BEI CHOLECYSTEKTOMIE, BZW. HERNIOTOMIE UNTER HALOTHANNARKOSE UND INTRAOPERATIVER KALIUM–MAGNESIUM–ASPARTAT–INFUSION

INAUGURAL–DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
CHRISTOPH - EKKEHARD GRAPE

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H.–E. Hoffmeister
Berichterstatter: Privatdozent Dr. H. Junger
Professor Dr. R. Schorer
Professor Dr. W. Heller

Inhaltsverzeichnis

Einleitung 1

Bedeutung des Citratcyclus 3

Metallionen und biochemische Reaktionen 6

Elektrolytverluste und deren Ausgleich 8

Stoffwechselwege der Asparaginsäure 11

Inzolen^{R} (Dr. Köhler Chemie) chemische und physikochemische Daten 12

Verfahren und Methoden 14

1. Auswahl der Versuchspersonen 14
2. Praemedikation und Narkose 14
3. Blutentnahme 15
4. Bestimmungsmethodik 15
   A. Probenahme 15
   B. Abänderung der Methode nach H.U. Bergmeyer 16

Enzymatische Bestimmung von Citrat Isocitrat und α - Ketoglutarat 18

Statistische Auswertung 24

1. Die Ergebnisse der Varianzanalyse 24

Beschreibung der Kurvenverläufe 26

Diskussion der Messergebnisse 28

Zusammenfassung 29

Tabellen 30

Literaturverzeichnis 34

Lebenslauf 42

Danksagung 43

Einleitung

Die Narkose, als wichtige Voraussetzung für jeden grösseren chirurgischen Eingriff, stellt jeweils ein gewisses Risiko dar. Dieses Risiko wird bekanntermassen umso grösser, je schlechter der Allgemeinzustand des Patienten ist, oder je ernster eine bereits bestehende Vorschädigung zu bewerten ist. Dann ist es dem Organismus nicht, oder nur in erheblich geringerem Ausmass möglich, den Störungen der Homoistase entgegenzuwirken, in die der Elektrolythaushalt mit einbezogen ist. So ergibt sich das Bestreben einer guten Anästhesietechnik, bestehende Vorschädigungen abzufangen und den Körper darin zu unterstützen, die durch das Operationstrauma und die Narkose hervorgerufenen Elektrolytstörungen möglichst effektiv zu bekämpfen.

Diese Elektrolytsubstitution geschieht üblicherweise in Lactat- bzw. in Chloridform, was sich als nicht ganz unproblematisch erwiesen hat, da gezeigt werden konnte, dass die benötigten Metallionen nur in unzureichendem Mass an den Wirkungsort, die Zelle, gelangen und zusätzlich die zwangsläufig zugeführten Mengen an Chlorid- oder Lactat den Organismus vor neue Stoffwechselprobleme stellen. Man hat sich daher schon längere Zeit bemüht, neue Möglichkeiten zu finden, die benötigten Elektrolyte schnell und sicher der Zelle zuzuführen. So bot sich als eine Lösung der Elektrolytsubstitution die Aspartatform als Ionenschlepper an.

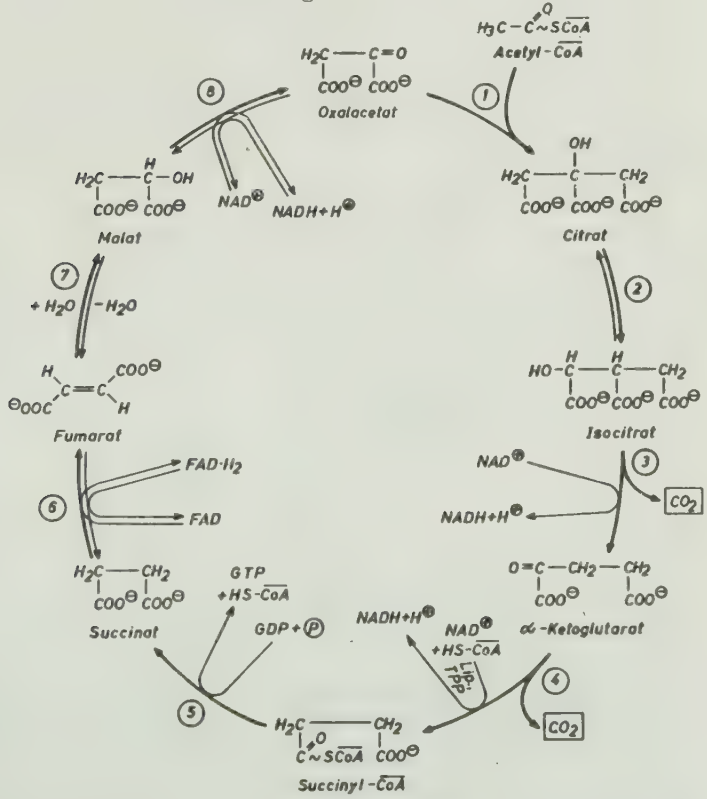
Wie die Zufuhr an Chloriden und Lactaten den Organismus vor neue Stoffwechselprobleme stellt, so besteht gleichfalls die Möglichkeit einer Störung durch die Zufuhr von Elektrolyten in Aspartatform. Da sich nun eine Beeinträchtigung des Stoffwechsels nachhaltig am Citratcyclus, als dem zentralen Syntheseort der Zelle, manifestiert, lautet die Fragestellung dieser Arbeit:

Welchen Einfluss hat die Zufuhr von grösseren Mengen an elektrolythaltigen Aspartaten auf den Citratcyclus während einer Halothannarkose? Untersucht wurden die Parameter Citrat, Isocitrat und α-Ketoglutarat.

Bedeutung des Citratcyclus

Die zentrale Bedeutung des Citratcyclus ergibt sich aus der Tatsache, dass auf gemeinsamer Endstrecke die C_2- Bruchstücke des Intermediärstoffwechsels von Kohlenhydraten, Eiweiss und Fetten in Verbindung mit der Atmungskette oxidiert werden. So entstehen unter hohem Energiegewinn die beiden Produkte der biologischen Endoxidation:

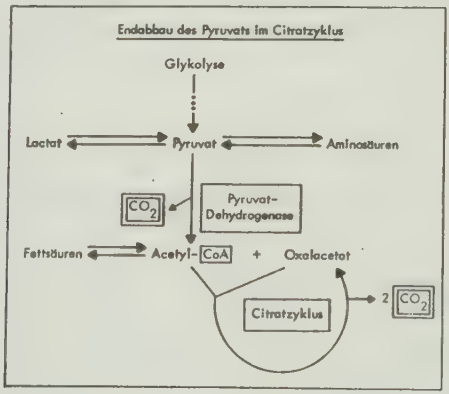
1) CO_2 (durch Decarboxilierung von organischen Säuren)
2) H_2O (durch Oxidation der reduzierten Coenzyme mit Hilfe der Atmungskette.



Der Citratcyclus. Aus: Karlson, Peter: Kurzes Lehrbuch der Biochemie, 7. Aufl. Stuttgart: Thieme 1970, S. 183

Somit laufen die Wege des Kohlenhydrat-, Eiweiss- und Fettstoffwechsel zusammen, indem aus obigen Abbauprodukten dieselbe chemische Verbindung, die "aktivierte Essigsäure" entsteht, d.h. an Coenzym A gebundene Essigsäure, die Ausgangspunkt für den Endabbau in diesem Cyclus darstellt. Das Schema auf der vorhergehenden Seite gibt davon einen Überblick.

Die Bedeutung des Citratcyclus erschöpft sich jedoch nicht damit, durch den Endabbau nur Energie zu gewinnen, sondern sie liegt weiter darin, dass ein grosses Sammelbecken geschaffen wird für alle Zwischenprodukte, die zum Aufbau von neuen, zelleigenen Stoffen dienen. Die Biosynthese von Kohlenhydraten, Lipiden, Proteinen, Purinen, Pyrimidinen und Porphyrinen benötigen Zwischenprodukte des Citratcyclus, wie das unten stehende Schema verdeutlichen soll.



Aus: Buddecke, Eckhart: Grundriss der Biochemie, 2. Aufl. Berlin: De Gruyter 1971, S. 239

Damit der Citratcyclus regelrecht ablaufen kann, ist eine Initialzündung notwendig. Diese kann nur erfolgen, wenn genügend Oxalessigsäure als Reaktionspartner für Acetyl Co A vorhanden ist. Gesteuert und gespeist wird das Reservoir an Oxalessigsäure aus verschiedenen Zu-

flüssen. So entsteht Oxalessigsäure z.B. durch Transaminierung der Asparaginsäure, dann ebenso aus Asparaginsäure via Harnstoffcyclus über die Parameter Fumarat und Malat und aus Brenztraubensäure auf aerobem, sowie anaerobem Weg.

Da der Citratcyclus nur in Verbindung mit der Atmungskette abläuft, gestaltet sich seine Energiebilanz wie folgt: Insgesamt entstehen 216 Kcal an chemischer Energie, davon 191 Kcal über die Atmungskette, wobei in einem Cyclusablauf 12 Moleküle ATP freigesetzt werden (siehe Schema auf Seite 3).

aus Stufe 3, 4 und 8 durch NAD.H-Oxidation je 3 insgesamt:	9 ATP
aus Stufe 6 durch Flavinoxidation	2 ATP
aus Stufe 5 durch Übertragung der energiereichen Bindung	1 ATP
	12 ATP

Unter Standardbedingungen entspricht das einem Energiebetrag von 12 x 7 = 84 Kcal pro Mol aktivierter Essigsäure oder rund 4o% der gesamten freien Energie.

Metallionen und biochemische Reaktionen

Mit dem Fortschreiten der Biochemie wurde immer deutlicher, dass eine unbestimmte Anzahl biochemischer Reaktionen nur in Gegenwart von Metallionen abläuft. Eine suffiziente Stoffwechselaktivität ist also nur dann gegeben, wenn genügend Metallionen vorhanden sind. Jedes Defizit der benötigten Ionen - sei es durch Mangel, Blockierung oder Inaktivierung, ist daher mit einer Abnahme der Stoffwechselaktivität verknüpft. Um diese Störung auszugleichen, muss jeder Mangel an Ionen - gleich welcher Genese - so schnell als möglich ausgeglichen werden. Dabei ist es wichtig, nicht nur den absoluten Ionenmangel zu beheben, sondern es muss zusätzlich gewährleistet sein, dass die regelrechten Verteilungsmuster wieder erreicht werden. Nur wenn im Intrazellulärraum und Extrazellulärraum Isoionie gegeben ist, wird eine ausreichende Enzymaktivität gesichert. Ist die Isoionie gestört, hat das Auswirkungen auf die Isotonie und die Isohydrie, was wiederum mit einer Minderung der Zelleistung gekoppelt ist.

Die Ätiologie der Störungen der Isoionie ist vielfältig. Neben der Möglichkeit einer Verursachung durch innere Krankheiten, dürften Störungen durch Traumatisierung, wie sie jeder chirurgische Eingriff darstellt, die häufigste Ursache sein. Zusätzlich zur Belastung des Organismus durch unmittelbar geschädigte Zellen, tritt eine allgemeine Schädigung der Zellstrukturen, die durch eine Überforderung biochemischer und elektrophysiologischer Grundprozesse hervorgerufen wird. Je nach Schwere und Grad der Traumatisierung kommt es zu einem mehr oder weniger grossen Austritt von Enzymen, Biokatalysatoren und Elektrolyten in den Extrazellulärraum. Dass so geschädigte Zellen nicht mehr vollwertig ihre Aufgaben zu leisten vermögen, liegt auf der Hand. Somit können Kohlenhydrate, Eiweiss und Fette nicht mehr im nötigen Mass metabolisiert werden. Besonderes Gewicht liegt hierbei auf den Verschiebungen der Elektrolyte

vom Intrazellulärraum (IZR) in den Extrazellulärraum (EZR), was die unmittelbare Folge von Permeabilitätsstörungen der geschädigten Zellmembran darstellt. Wird aber die normale Elektrolytverteilung auf den IZR und EZR nicht aufrecht erhalten, so muss die intermediäre Stoffwechselleistung sinken oder gar zusammenbrechen.

Elektrolytverluste und deren Ausgleich

Wie oben dargelegt, sind ein grösserer Elektrolytverlust und eine ausreichende Zelleistung nicht vereinbar. Der früher eingeschlagene Weg der Therapie war die Verabfolgung der benötigten Elektrolyte in Form von Chloriden und Lactaten. Dieses Vorgehen kann aus zwei Gründen nicht voll befriedigen:

1. Dem Körper werden neben den benötigten Metallionen noch erhebliche Mengen an Chloriden, bzw. an Lactaten zugeführt, was den Körper vor neue Stoffwechselprobleme stellt.
2. Werden die Elektrolyte in Chlorid- oder Lactatform zugeführt, so kommt es zwar zu einer Normalisierung des Serumelektrolytspiegels, doch dieser gestattet keinen Rückschluss auf die Verhältnisse innerhalb der Zelle.

Diese unbefriedigende Situation wurde gebessert, als man die Elektrolyte in Form von Aspartaten dem Körper anbot. Wie gezeigt werden konnte, kommt es bei Anwendung von Aspartaten tatsächlich zu einem Einbau der Elektrolyte in die Zelle.

Stolz und Heller (47) untersuchten die Kaliumausscheidung im Urin bei Gabe von Kaliumchlorid, bzw. Kaliumaspartat. Dabei erwies sich, dass die Kaliumausscheidung im Urin bei Gabe von Kaliumaspartat erst nach 6 - 8 Tagen deutlich anstieg, während bei Gabe von Kaliumchlorid über 90% des so substituierten Kaliums rasch wieder ausgeschieden wurde.

Bei der hierbei verwendeten Kalium-Magnesium-Aspartat-Infusion (Inzolen^{R}), liegt Kalium als Salz der Asparaginsäure vor, die anderen Metalle (Mg, Cu, Ko, Zn, Mn) liegen komplex gebunden als Chelate der Asparaginsäure vor. Als Chelate werden Verbindungen bezeichnet, die aus Chelatbildnern, d.h. aus Verbindungen, die direkt

oder nach Verlust eines oder mehrerer Protonen mit einem geeigneten Metall heterozyklische Ringe bilden, hervorgegangen sind. Durch Chelatbildung wird das Molekül eines aliphatischen Chelatbildners in einen metallhaltigen Heterozyklus von pseudoaromatischem Charakter umgewandelt. Diese Verschiebung der Elektronenkonfiguration ist für die veränderten Eigenschaften des Metallions verantwortlich. Die Gruppen der Chelatbildner, die mit dem Zentralatom den Ring bilden, sind für das Mass der Inaktivierung in biochemischer und physikochemischer Hinsicht verantwortlich. Durch den Abbau dieser Chelatbildner werden die Chelate selbst zerstört und somit die Metallionen freigesetzt. Nun kann die Zelle eingreifen, indem sie das Zentralatom mittels eigener Liganden bindet und aus dem Chelat befreit. Abhängig sind diese Vorgänge von der Stabilitätskonstanten des Komplexes, von der Konzentration und dem pH-Wert (4).

Dass die Verwendung der Chelate der Asparaginsäure als Ionenschlepper nicht nur ein theoretisch reizvoller Gedanke, sondern auch ein in der Praxis gangbarer Weg ist, wies Laborit in Rattenversuchen nach. Er konnte zeigen, dass Ratten, denen eine definierte Menge an K- Mg- Aspartat zugeführt worden war, im Schwimmversuch fast 100% leistungsfähiger waren, als ein entsprechend unbehandeltes Kontrollkollektiv.

Nieper und Blumberger (38) gingen der Frage nach, ob und ggf. welches Mischungsverhältnis von K- und Mg- Aspartat für den Organismus das Optimum bietet. Das empirisch gefundene Verhältnis betrug dabei 1:1. Es darf daher angenommen werden, dass K- Mg- Aspartat den Zellstoffwechsel leistungsfähiger gestaltet, obwohl es bisher nicht gelungen ist (siehe die Arbeiten von Staib und Kretzschmar (46)) bzw. nur unter Extrembedingungen, einen erhöhten Spiegel an K- Mg- Aspartat in entsprechenden Geweben nachzuweisen.

In diesem Zusammenhang interessant sind auch die Versuche von Nakahara et al. (36) am Gastrocnemiusmuskel des Kaninchens, wobei bei den K- Mg- Aspartat vorbehandelten Tieren höhere Konzentrationen an ATP, sowie grössere Amplitudenausschläge nachgewiesen werden konnten. Trotzdem lehnten die Vefasser eine aktive Beteiligung der Aspartate am Energiestoffwechsel des Citratcyclus ab und erklärten ihre Ergebnisse durch eine Einsparung an ATP bei der Repolarisation, sowie durch eine erhöhte Hemmung der Depolarisation.

197o zeigte Keul (28), dass unter Einfluss von K- Mg- Aspartat die Herzfrequenz bei gleicher Arbeit zweier Kontrollgruppen geringer ist und wertete dieses Ergebnis ebenfalls als bessere Ökonomisierung. Dudziak (16) fand am isolierten Rattenherzen einen erhöhten Sauerstoffverbrauch unter K- Mg- Aspartat und diskutierte eine Aktivierung des oxidativen Stoffwechsels. In ähnliche Richtung weisen auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, bei der sich eine Stimulierung des Citratcyclus über Aspartat- Oxalacetat und Acetyl- CoA und damit eine vermehrte Energiegewinnung aufzeigen liess.

Stoffwechselwege der Asparaginsäure

Die Asparaginsäure ist eine nicht essentielle Monoaminodicarbonsäure. Sie kommt, wie alle Aminosäuren, sowohl in der D- als auch in der L- Form vor. Auf dem Weg zur Glukoneogenese wird sie zu Phosphoenolpyruvat verarbeitet, was ihre Zugehörigkeit zu den glukoplastischen Aminosäuren zeigt.

Wird die Asparaginsäure transaminiert oder oxidativ desaminiert, so kann sie mit Hilfe von Pyridoxalphosphat in Oxalacetat und damit in den Citratcyclus überführt werden.

Als weitere wichtige Funktion der Asparaginsäure kann die Eliminierung von Ammoniak aus Desaminierungsvorgängen aufgezeigt werden:

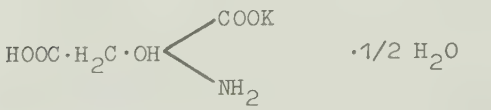
NH_4 verbindet sich unter Verbrauch von 2 Molekülen ATP mit CO_2 zu Carbamylphosphat, welches sich im Citratcyclus mit Ornithin zu Citrullin verbindet. Dieses wird durch Anlagerung von Asparaginsäure in Argininosuccinat überführt, aus dem nach Abspaltung von Fumarsäure Arginin entsteht. Mit der Fumarsäure ist wiederum die Verbindung zum Citratcyclus gegeben, da diese über Äpfelsäure in Oxalacetat überführt werden kann.

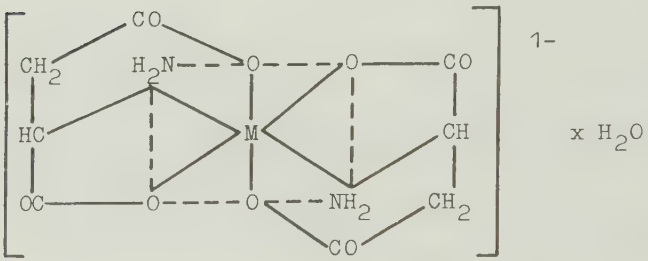
Inzolen^{R} chemische und physikochemische Daten

Mit dem Inzolen^{R} steht der Medizin ein Mittel zur Verfügung, das sich zur Prophylaxe und Therapie von Elektrolytstörungen eignet. Die Voraussetzung dafür stellen die besonderen pharmakodynamischen Eigenschaften der Aspartat- Chelate dar, die die normale intrazelluläre Kationenverteilung möglichst rasch wiederherstellen.

Chemische und physikochemische Daten

Die Wirkstoffe haben folgende Strukturformel:





Dabei bedeutet M das Kation Mg, Cu, Co, Zn, Mn und x nimmt den Zahlenwert 1 - 5 ein.

Bruttoformeln und Molekulargewichte:

$C_4H_6O_4NK \cdot 1/2\ H_2O$	= 180,21
$C_8H_{12}O_8N_2Mg \cdot 4\ H_2O$	= 360,60
$C_8H_{12}O_8N_2Cu \cdot 1/2\ H_2O$	= 336,75
$C_8H_{12}O_8N_2Mn \cdot 2\ 1/2\ H_2O$	= 364,18
$C_8H_{12}O_8N_2Co \cdot 5\ H_2O$	= 413,22
$C_8H_{12}O_8N_2Zn$	= 329,58

Zusammensetzung:
500 ml Inzolen^{R} enthalten:

4,500 g Kalium - DL - asparaginat	=	24,97 mval K
4,500 g Magnesium - DL - asparaginat	=	24,94 mval Mg
0,020 g Kupfer - DL - asparaginat	=	0,12 mval Cu
0,012 g Zink - DL - asparaginat	=	0,07 mval Zn
0,008 g Mangan -DL - asparaginat	=	0,04 mval Mn
0,008 g Kobalt - DL - asparaginat	=	0,04 mval Co
1,500 g Natriumchlorid	=	25,60 mval Na
25,000 g Sorbit		
0,500 g Pantothenylalkohol		

Verfahren und Methoden

1. Auswahl der Versuchspersonen

Zur Konzentrationsbestimmung der Metabolite des Citratcyclus wurden zwei Patientenkollektive der Chirurgischen Universitätsklinik Tübingen ausgewählt. Zusammengenommen betrug die Anzahl der Probanden 26, wobei sich die eine Hälfte einer Herniotomie, die andere einer Cholecystektomie unterziehen musste.

Das erste Kollektiv erfüllte folgende Bedingungen:
1. Diagnose vor der Operation: Leistenhernie
2. Geschlecht: männlich
3. Alter zwischen 22 und 6o Jahren
4. Guter Allgemeinzustand ohne vorangegangene Stoffwechselerkrankungen

Für das zweite Kollektiv galt:
1. Diagnose vor der Operation: Cholelithiasis
2. Geschlecht: weiblich
3. Alter zwischen 33 und 62 Jahren
4. Guter Allgemeinzustand ohne vorangegangene Stoffwechselerkrankungen

2. Praemedikation und Narkose

Die Praemedikation war bei beiden Patientenkollektiven dieselbe: Es wurden o,5 mg Atropin und 1,5 - 2,o ml eines Kombinationspräparates von Dehydrobenzperidol und Fentanyl im Verhältnis 1:5o gegeben. Die Einleitung der Narkose erfolgte mit 2oo - 3oo mg Thiopental. Nach Verabreichung von 1o - 15 mg Gallamin wurde orotracheal intubiert und nachfolgend beatmet. Die Narkose bestand aus einer Kombination von Halothan (o,2 - 1,5%), Sauerstoff und Lachgas (O_2 : N_2O = 1 : 2). Als Infusion wurde eine 5% Xylitlösung mit o,1 - o,2% Suxamethonium (insgesamt 1oo - 15o mg) gegeben. Daneben wurde für die Dauer der Operation 5oo ml Kalium- Magnesium-

Aspartat (Inzolen^{R}) verabreicht.

3. Blutentnahme

Die einzelnen Blutentnahmen erfolgten zu folgenden Zeitpunkten:

1. Praeoperativ vor Einleitung der Narkose
2. Postoperativ nach Einsetzen der Spontanatmung und Extubation
3. 24 Stunden nach der 2. Blutentnahme
4. 48 Stunden nach der 2. Blutentnahme

4. Bestimmungsmethodik

Die enzymatischen Bestimmungsmethoden stützen sich auf die Angaben von H.U. Bergmeyer et al. (3), da diese Methoden von verschiedenen Autoren stammen, differieren sie zum Teil erheblich hinsichtlich der Probenahme und Verarbeitung. Deshalb wurde eine Abstimmung auf gleiche Behandlung des Probematerials angestrebt, was eine Vereinfachung des ganzen Prozesses mit sich brachte und gleichzeitig die Reproduzierbarkeit erhöhte. Die Abänderungen werden jeweils erläutert.

A. Probenahme

Verwendet wurde grundsätzlich nur ungestaut entnommenes Blut aus der V. cubitalis. Um Veränderungen durch die anaerobe Glykolyse möglichst auszuschliessen, musste das Blut sofort nach der Abnahme mit eisgekühlter Perchlorsäure versetzt und durch Zentrifugieren bei 4°C enteiweisst werden. Danach wurde die überschüssige $HClO_4$ - Lösung mit 1,75 M Kaliumphosphatlösung gefällt. Die Probe erhielt dadurch ein pH von 7 - 8. Der gewonnene Überstand wurde als Probe eingesetzt. Diese Vorgänge sollen an folgendem Schema verdeutlicht werden:

Ansatz der Enteiweissung und Perchloratfällung

Vollblut,	5 ml
eiskalte $HClO_4$ - Lösung 1 N	5 ml
schütteln und 1o Min. zentrifugieren	
Überstand	5 ml
K_3PO_4 - Lösung 1,75 M	1 ml
1o Min. im Eisbad stehen lassen. Dann 1o Min. zentrifugieren. Zentrifugat auf ca. 25°C bringen.	

B. Abänderung der Methode nach H.U.Bergmeyer

Die Methode der Abänderung der Angaben nach H.U.Bergmeyer wurde von P.Kuhnle übernommen. Sie bezieht sich auf folgende Punkte:
1. Ursprünglich wurde die Enteiweissung mit o,6 N bzw. 1,o N $HClO_4$ - Lösung durchgeführt. Dies hatte zur Folge, dass auf der einen Seite die doppelte Menge an Blut benötigt wurde, auf der anderen die doppelte Probenahme eine zweimalige Enteiweissung und anschliessende Neutralisation erforderte.
2. Das $HClO_4$ -saure Zentrifugat wurde nicht mittels des pH - Meters neutralisiert, die Perchloratfällung erfolgte mit 1,75 M K_3PO_4 - Lösung.

Die Vorteile dieser Probebehandlung sind offensichtlich:
1. Die aufwendige und zeitraubende Titration jeder einzelnen Probe wird vermieden.
2. Die durch die Titration bedingte unterschiedliche Verdünnung der Proben entfällt. Dadurch muss auch nicht mehr für jede einzelne Probe ein neuer Faktor berechnet werden.
3. Alle Proben werden genau gleich behandelt und verdünnt. Fehler, die durch die Eichung des pH - Meters, die Titration, die Bestimmung der zur Neutralisation benötigten NaOH - Menge, die Faktorenberechnung und

schliesslich durch die unterschiedliche Verdünnung und einem damit verbundenen starken Schwanken der Substratkonzentration im Test entstehen können, werden somit unterbunden.

Enzymatische Bestimmung von Citrat

1. Prinzip

Citratlyase katalysiert das Gleichgewicht zwischen Citrat, Acetat und Oxalacetat. Citratlyasepräparate aus Aeorabacter aerogenes enthalten noch Oxalacetatdecarboxylase, darüber hinaus wird Oxalacetat auch spontan dekarboxyliert. Um sowohl Oxalacetat als auch Pyruvat vollständig zu erfassen, verwendet man als Indikatorenenzyme MDH = Malatdehydrogenase und LDH = Lactatdehydrogenase. Die Abnahme der NADH - Konzentration, gemessen an der Abnahme der Extinktion bei 366 nm, ist ein Mass für die umgesetzte Citratmenge.

$$\text{Citrat} \xrightarrow{\text{Citratlyase}} \text{Oxalacetat} + \text{Acetat}$$

$$\text{Oxalacetat} \xrightarrow[\text{decarboxylase}]{\text{O.A.}} \text{Pyruvat} + CO_2$$

$$\text{Pyruvat} + \text{Oxalacetat} + 2\ \text{NADH} + 2\ \text{H} \longrightarrow \text{Laktat} + \text{Malat} + 2\ \text{NAD}$$

2. Notwendige Reagenzien und Herstellung der Lösungen

a) $ZnCl_2$/Triäthanolamin-Puffer (o,1 M Tra; o,2 mM $ZnCl_2$) 14,9 g Triäthanolamin in 75o ml Wasser lösen, mit konz. HCl auf pH = 7,6 einstellen, mit Wasser auf 1ooo ml verdünnen, in dieser Lösung o,o27 g $ZnCl_2$ lösen.

b) Reduziertes NADH (1o mM)
16 mg NADH-Na_2 und 15 mg $NaHCO_3$ mit 2 ml Wasser lösen.

c) LDH-/ MDH-Denydrogenase (je 2 mg Protein /ml)
Stammsuspensionen mit 2,2 M Ammoniumsulfat-Lösung entsprechend verdünnen und mischen.

d) Citratlyase, Cl (5o - 1oo U/ml)
21 mg Lyophilisat (5 mg Enzymprotein) mit o,5 ml Wasser lösen.

e) Es ist darauf zu achten, dass zur Herstellung

sämtlicher Lösungen nur doppelt destilliertes Wasser verwendet wird.

3. Spezifität der Methode

Citratlyase ist spezifisch für Citrat. Substanzen des Tricarbonsäurezyclus und verwandte Substanzen werden nicht umgesetzt.

4. Bestimmungsansatz

Testvolumen: 3 ml; Schichtdicke: 1 cm; Messung gegen Luft und bei Raumtemperatur.

in die Küvette pipettieren	
Probe	o,1 ml
$ZnCL_2$/Tra-Puffer	2,8 ml
NADH-Lösung	o,o6 ml
sorgfältig mischen; Extinktion E_1 ablesen.	
LDH/MDH-Lösung	o,o2 ml
mischen, nach ca. 3 Min Konstanten Endwert E_2 ablesen. $E_1 - E_2 = \Delta E_1$ gibt den Gehalt an Pyruvat und Oxalacetat an.	
CL-Lösung	o,o2 ml
mischen, nach ca. 1o Min konstante Extinktion E_3 ablesen. $E_2 - E_3 = \Delta E_2$ geht in die Berechnung ein.	

Anstatt o,o6 ml NADH-Lösung von 1o mM zu verwenden, wurde mit o,o5 mM NADH-Lösung von 12 mM gearbeitet.

5. Berechnung

Konzentration $c = \Delta E$ mal f(µMol/ml)
Der Faktor f ergibt sich aus der Verdünnung und ist zusätzlich von der Wellenlänge abhängig. Aus dem ursprünglich bekannten Faktor f = 9,1 ergab sich

durch Veränderung der Mengenzugabe von Perchlorsäure und Kaliumperchlorat der neue Faktor f = 2o,2o

Enzymatische Bestimmung von Isocitrat

1. Prinzip

Eine sichere Bestimmungsmethode für Isocitrat fusst auf der Messung der Reduktion von NADP durch Isocitrat - Dehydrogenase ICDH.

Isocitrat + NADP $\xrightarrow{ICDH}$ α - Ketoglutarat + CO_2 + NADPH

Das Gleichgewicht liegt weit auf der rechten Seite.

2. Notwendige Reagenzien und Herstellung der Lösungen

a) Tris-Puffer (Trishydroxymethyl-aminomethan) o,1 M
6,o43 g Tris in 1oo ml H_2O lösen; o,186 g EDTA-Na_2H_2 mal 2 H_2O zugeben; pH mit 2 N HCl auf 7,4 bringen; (Glaselektrode) mit H_2O auf 5oo ml auffüllen.

b) Mangansulfat (2o mM)
67,6 mg $MnSO_4$. H_2O mit H_2O ad 2o ml lösen.

c) NADP (ca. 5 mM)
12 mg NADP-NaH_2 in 3 ml Tris-Puffer lösen.

d) Isocitratdehydrogenase ICDH (ca. 8 U/ml)
Handelspräparat in 5o% Glyzerin mit H_2O entsprechend verdünnen. Lösung täglich frisch ansetzen.

3. Spezifität der Methode

ICDH reagiert ausser mit Isocitrat mit keiner anderen in biologischem Material vorkommenden Substanz.

4. Bestimmungsansatz

Testvolumen: 1,65 ml; Schichtdicke: 1 cm; Messung gegen Luft und bei Raumtemperatur.

in die Küvette pipettieren	
Pufferlösung	1,oo ml
Mn^{2+} Lösung	o,2o ml
NADP-Lösung	o,o5 ml
ICDH-Lösung	o,o2 ml
aqua-destillata	o,28 ml
gut mischen, nach Konstantwerden der Extinktion (höchstens 3 Min) deren Wert E_1 ablesen.	
Probe	o,1o ml
gut mischen; nach Ablauf der Reaktion (1 - 2 Min) Extinktion E_2 ablesen. Der Endwert darf sich in 5 Min höchstens um 1% ändern = Rückschleich; $\Delta E = E_2 - 0,94\ E_1$ geht in die Berechnung ein.	

5. Berechnung

Konzentration $c = E_2 - E_1$ mal o,94

$c = \Delta E$ mal f

$c = \Delta E$ mal o,67 (μmol/ml)

Enzymatische Bestimmung von α-Ketoglutarat

Zu dieser Bestimmung wurden zusätzlich Angaben der Fa. Boehringer, Mannheim hinzugezogen. Die im folgenden beschriebene Methode lehnt sich wiederum an die Angaben von H.U. Bergmeyer und E. Bernt an.

1. Prinzip

α-Ketoglutarat reagiert in der durch Glutamat-Dehydrogenase GLDH katalysierten enzymatischen Reaktion mit NADH und NH_4- Ionen unter Bildung von

L-Glutamat und NAD.

$$\alpha\text{-Ketoglutarat} + NADH + NH_4 \xrightarrow{GLDH} L\text{-Glutamat} + NAD^+ + H_2O$$

2. Notwendige Reagenzien und Herstellung der Lösungen

a) Trikaliumphosphatlösung (1,75 M)
46,6 g $K_3PO_4 \cdot 3\ H_2O$ in ca. 5o ml bidest. H_2O lösen und mit bidest. H_2O ad 1oo ml auffüllen.

b) NADH (3 mM)
2o mg NADH-Na_2 mit 1o ml bidest. H_2O lösen.

c) Glutamat-Dehydrogenase in Ammoniumsulfatlösung (5 mg GLDH/ml) o,25 ml GLDH-Suspension mit o,75 ml Ammoniumsulfatlösung verdünnen.

d) Ammoniumsulfatlösung (2 M)
2,64 g $(NH_4)_2SO_4$ mit bidest. H_2O lösen und auf 1o ml auffüllen.

e) Trikaliumphosphatlösung (17,5 mM)
Ein ml Lösung (a) mit 99 ml bidest. H_2O verdünnen.

3. Spezifität der Methode

Bei dieser Bestimmung wird α-Ketovaleriansäure in langsamer Reaktion miterfasst. α-Ketoisovaleriansäure, α-Ketobuttersäure und Pyruvat werden mit so geringer Reaktionsgeschwindigkeit umgesetzt, dass sie die α-Ketoglutaratbestimmung nicht beeinflussen.

4. Bestimmungsansatz

Testvolumen: 4,22 ml; Schichtdicke: 2 cm; Messung gegen Luft und bei Raumtemperatur.

in Küvetten pipettieren

	Leerwert	Probe
Filtrat		4 ml
K_3PO_4 verdünnt	4,oo ml	--
NADH	o,2o ml	o,2o ml
mit dem Plastikspatel mischen; Extinktion der Probe E_{1p} und des Leerwerts E_{1l} messen.		
GLDH	o,o2 ml	o,o2 ml
einmischen, bei Probe und Leerwert Stillstand der Reaktion abwarten (5 Min). Extinktion E_{2p} und E_{2L} ablesen.		

5. Berechnung

$E = (E_{1P} - E_{2P}) - (E_{1L} - E_{2L})$

$c = \Delta E$ mal f

$c = \Delta E$ mal 5,18 (mg/1oo ml)

$c = \Delta E$ mal 5,18 : 14,6 (μ Mol/ml)

$= \Delta E$ mal o,355 (μ Mol/ml)

Statistische Auswertung

Es wurden zweifache Varianzanalysen bei einem Messwert pro Fach berechnet. Der erste Faktor war die Person, der zweite Faktor war die Zeit. Durchweg waren vier Stufen vorhanden: Praeoperativ, postoperativ, nach 24 Stunden und nach 48 Stunden. Der Faktor Zeit war fest. Zeigte der Faktor Zeit eine signifikante Wirkung, so wurden Paarvergleiche der Mittelwerte ausgeführt und zwar mit Hilfe des Student - Fisher - Tests gepaarter Stichproben. Als Signifikanzniveau wurde durchweg o,o5 verwertet.

Es bedeuten:

I = praeoperativ
II = postoperativ
III = nach 24 Stunden
IV = nach 48 Stunden
s = ein signifikanter Unterschied war vorhanden, d.h. der Unterschied war überzufällig.
ns = ein signifikanter Unterschied war nicht vorhanden, d.h. der Unterschied war nur zufällig.

1. Die Ergebnisse der Varianzanalyse

a) Messwert war Isocitrat (Herniotomie μmol/ml)

b) Messwert war Isocitrat (Cholecystektomie μmol/ml)

Bei diesen beiden Messwerten zeigt weder der Faktor Person, noch der Faktor Zeit eine signifikante Wirkung. Auf die Durchführung des Student - Fisher - Tests wurde deshalb verzichtet.

c) Messwert war α - Ketoglutarat (Herniotomie μmol/ml)

Der Faktor Person zeigte nicht signifikante Wirkung. Der Faktor Zeit zeigte signifikante Wirkung.

Tabelle der Mittelwerte

praeop.:	postop.:	nach 24 Std.:	nach 48 Std.:
o,oo1	o,oo3	o,oo3	o,oo5

Student - Fisher - Test

I-II	I-III	I-IV	II-III	II-IV	III-IV
s	s	s	ns	s	s

d) Messwert war α - Ketoglutarat (Cholecystektomie μmol/ml)
Der Faktor Person zeigte nicht signifikante Wirkung.
Der Faktor Zeit zeigte signifikante Wirkung.

Tabelle der Mittelwerte

praeop.:	postop.:	nach 24 Std.:	nach 48 Std.:
o,oo2	o,oo4	o,oo4	o,oo6

Student - Fisher - Test

I-II	I-III	I-IV	II-III	II-IV	III-IV
s	s	s	ns	s	s

Beschreibung der Kurvenverläufe

Die folgenden Parameter des Citratcyclus (Isocitrat und α - Ketoglutarat) wurden quantitativ bestimmt und graphisch dargestellt, wobei auf der Abszisse die Zeitpunkte der Messungen (I = praeoperativ, II = postoperativ, III = nach 24 Stunden, IV = nach 48 Stunden) und auf der Ordinate die Mittelwerte der Konzentrationen in µmol/ml festgehalten wurden. Diese Mittelwerte setzten sich aus 26 Einzelmessungen zusammen, wobei jeweils die Hälfte auf Patienten entfiel, die sich einer Cholecystektomie, bzw. einer Herniotomie unterziehen mussten.

α - Ketoglutarat (Herniotomie)

Es konnte ein statistisch signifikanter Konzentrationsanstieg von I zu II nachgewiesen werden. Die Werte zwischen II und III zeigten keine statistisch signifikanten Veränderungen. Jedoch ergab sich ein weiterer signifikanter Konzentrationsanstieg von III zu IV. Im weiteren Verlauf konnte noch ein statistisch signifikanter Anstieg von I zu III, von I zu IV und von II zu IV gesichert werden.

α - Ketoglutarat (Cholecystektomie)

Diese Messwerte verhalten sich in analoger Weise. Es konnte ein statistisch signifikanter Konzentrationsanstieg von I zu II und von III zu IV nachgewiesen werden. Zwischen II und III ergab sich keine signifikante Differenz. Dagegen konnten statistische Signifikanzen zwischen I und III, I und IV, sowie II und IV dargestellt werden.

Isocitrat (Herniotomie)

Es wurde ein Konzentrationsabfall von I zu II beobachtet, desgleichen ein Abfall von III zu IV. Dagegen konnte ein Konzentrationsanstieg zwischen II und III bemerkt werden. Alle diese Veränderungen konnten jedoch nicht in statistisch signifikanter Weise gesichert werden. Signifikanzen liessen sich ebenfalls nicht für das Verhältnis von I zu III, I zu IV, sowie von II zu IV nachweisen.

Isocitrat (Cholecystektomie)

Ein geringer Konzentrationsanstieg von I zu II, bzw. von II zu III konnte festgestellt werden. Ein geringgradiger Abfall ergab sich dagegen von III zu IV. Auch hier konnte keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden. Die geringgradigen Unterschiede von I zu III, sowie von II zu IV konnten ebenfalls nicht in statistisch signifikanter Weise gesichert werden.

Diskussion der Messergebnisse

Im Folgenden soll eine Interpretation der gefundenen Messwerte die Veränderungen im Citratcyclus erklären, die durch den Einfluss von Inzolen^{R} - Infusion hervorgerufen wurden. Anzumerken wäre noch, dass auf eine weitere Differenzierung der Patienten, die sich einer Gallenoperation, bzw. einer Herniotomie unterziehen mussten, verzichtet wurde, da sich - wie auf den Schaubildern ersichtlich - beide Patientenkollektive gleichartig verhielten.

Durch die Inzolen^{R} - Infusion werden dem Citratcyclus grosse Mengen an Aspartat zugeführt. Dieses Aspartat kann zu Oxalacetat verstoffwechselt werden, um im Folgenden zusammen mit Acetyl - Co A sofort zu Citrat, Isocitrat und α - Ketoglutarat weiterzureagieren. Eine wesentliche Steigerung der Citrat- und Isocitratkonzentration konnte jedoch nicht nachgewiesen werden, da die jeweiligen Enzyme die anfallenden Substrate sofort umsetzen.

Zu einem gewissen Substratanstau und damit zu einem signifikanten Anstieg der Konzentration kommt es erst auf der Stufe des α - Ketoglutarats, da sich hier der Einfluss der Asparaginsäure durch die Verknüpfung mit dem Harnstoffcyclus bemerkbar macht.

Zusammenfassung

Die hier vorgelegte Arbeit beschäftigt sich zusammen mit der Arbeit von B. Grape (19) mit den Folgen der Zufuhr von grösseren Mengen an Metallaspartaten auf den Citratcyclus. Quantitativ untersucht wurden dabei folgende Parameter: Citrat, Isocitrat und α - Ketoglutarat. Dabei kam die enzymatische Bestimmungsmethode zur Anwendung, wie sie von H.U. Bergmeyer (3) angegeben wird. Die Methode wurde von P. Kuhnle (29) den besonderen Erfordernissen dieser Arbeit angepasst.

Als Untersuchungskollektiv wurden 26 Patienten der Chirurgischen Universitätsklinik Tübingen ausgewählt, die sich einer Hernienoperation, bzw. einer Cholecystektomie unterziehen mussten. Dabei handelte es sich bei den Patienten mit Hernienoperation durchweg um Männer, während die Patienten mit Cholecystektomie durchweg Frauen waren. Das Alter des Patientenkollektivs betrug 22 - 62 Jahre. Als Anästhesieverfahren wurde einheitlich eine Halothaninhalationsnarkose angewendet. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Zufuhr von Elektrolyten, wie sie in der Inzolen^{R} - Infusion vorliegen, zu einer Stimulation des Citratcyclus führt, was am Anstieg der Konzentration von α - Ketoglutarat gezeigt werden konnte. Eine wesentliche Steigerung der Citrat- und Isocitratkonzentration liess sich nicht feststellen, da die jeweiligen Enzyme die anfallenden Substrate sofort umsetzten.

Die in der Inzolen^{R} - Infusion enthaltenen Elektrolyte liegen in Chelatform vor. Deren Erscheinen im Citratcyclus zeigt daher, dass ein Eindringen in den Intrazellulärraum tatsächlich gegeben ist. Ein Ausgleich von Elektrolytverlusten kann also mit Hilfe von aspartatgebundenen Elektrolyten erfolgen. Dies wird durch die Stimulation des Citratcyclus gezeigt, dessen Funktionieren an die Anwesenheit von Metallionen gebunden ist.

Tabellen

Isocitrat (Herniotomie)

	prae	post	24 h	48 h
1)	o,4o2	o,384	o,4o5	o,372
2)	o,445	o,431	o,475	o,385
3)	o,461	o,457	o,427	o,5o7
4)	o,371	o,334	o,31o	o,428
5)	o,499	o,454	o,434	o,388
6)	o,513	o,553	o,484	o,434
7)	o,43o	o,4oo	o,524	o,48o
8)	o,416	o,4o3	o,646	o,365
9)	o,611	o,511	o,4oo	o,1o3
1o)	o,457	o,3o3	o,414	o,38o
11)	o,546	o,122	o,513	o,449
12)	o,249	o,467	o,629	o,697
13)	o,448	o,4o5	o,527	o,48o
$\bar{x}$ =	o,45o	o,4o2	o,476	o,421

α - Ketoglutarat (Herniotomie)

	prae	post	24 h	48 h
1)	o,o1o	o,o14	o,o17	o,o17
2)	o,oo7	o,o12	o,o1o	o,o19
3)	o,o1o	o,o12	o,o12	o,o14
4)	o,oo7	o,o1o	o,o19	o,o19
5)	o,oo7	o,o18	o,o15	o,o17
6)	o,o1o	o,o14	o,o14	o,o17
7)	o,o1o	o,o13	o,o18	o,o21
8)	o,o13	o,o18	o,o18	o,o22
9)	o,o12	o,o24	o,o12	o,o19
1o)	o,o19	o,o1o	o,o1o	o,o22
11)	o,o14	o,o17	o,o14	o,o19
12)	o,oo8	o,o12	o,o17	o,o22
13)	o,oo7	o,o1o	o,o15	o,o19
$\bar{x}$ =	o,o1o	o,o14	o,o15	o;o19

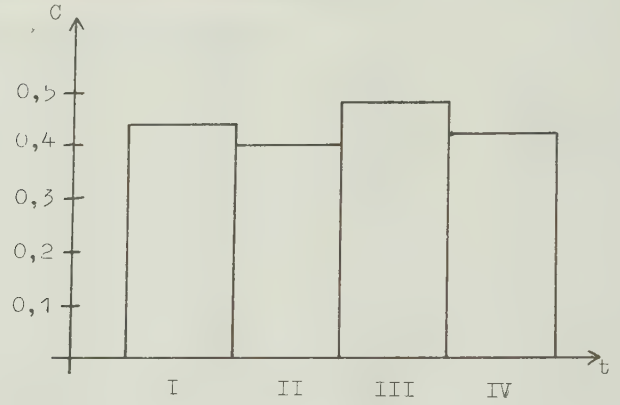
Isocitrat (Cholecystektomie)

	prae	post	24 h	48 h
1)	o,523	o,416	o,431	o,664
2)	o,386	o,363	o,337	o,418
3)	o,541	o,418	o,495	o,373
4)	o,136	o,438	o,489	o,5o9
5)	o,419	o,389	o,44o	o,316
6)	o,392	o,5o1	o,472	o,472
7)	o,4oo	o,38o	o,497	o,349
8)	o,244	o,483	o,444	o,541
9)	o,385	o,342	o,384	o,444
1o)	o,667	o,562	o,466	o,261
11)	o,48o	o,634	o,559	o,483
12)	o,375	o,357	o,398	o,353
13)	o,425	o,5o3	o,478	o,482
$\bar{x}$ =	o,413	o,445	o,453	o,436

α - Ketoglutarat (Cholecystektomie)

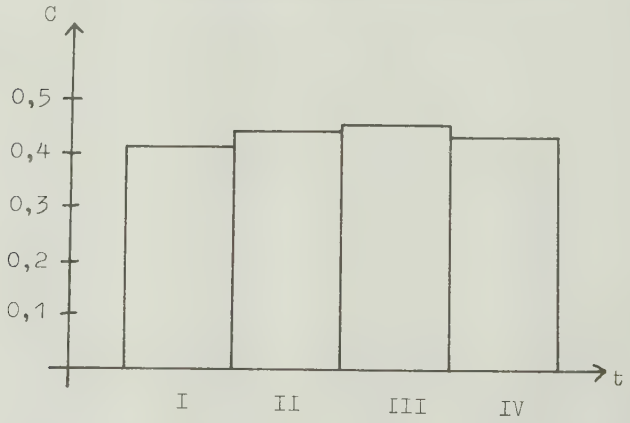
	prae	post	24 h	48 h
1)	o,oo7	o,o12	o,o14	o,o29
2)	o,o15	o,o17	o,o17	o,o19
3)	o,o14	o,o15	o,o14	o,o19
4)	o,oo8	o,o12	o,o21	o,o24
5)	o,oo7	o,o17	o,o21	o,o21
6)	o,o14	o,o17	o,o19	o,o19
7)	o,oo7	o,o21	o,o12	o,o17
8)	o,o1o	o,o12	o,o19	o,o22
9)	o,o14	o,o17	o,o14	o,o19
1o)	o,o1o	o,o26	o,o14	o,o17
11)	o,o12	o,o14	o,o17	o,o29
12)	o,o14	o,o17	o,o17	o,o19
13)	o,o13	o,o18	o,o21	o,o22
$\bar{x}$ =	o,o11	o,o17	o,o17	o,o21

Isocitrat (Hemilotomie, µMol/ml)



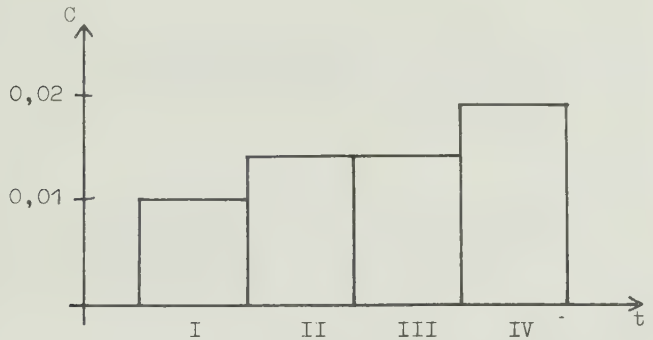
Kein Student - Fisher - Test

Isocitrat (Cholecystektomie, µMol/ml)



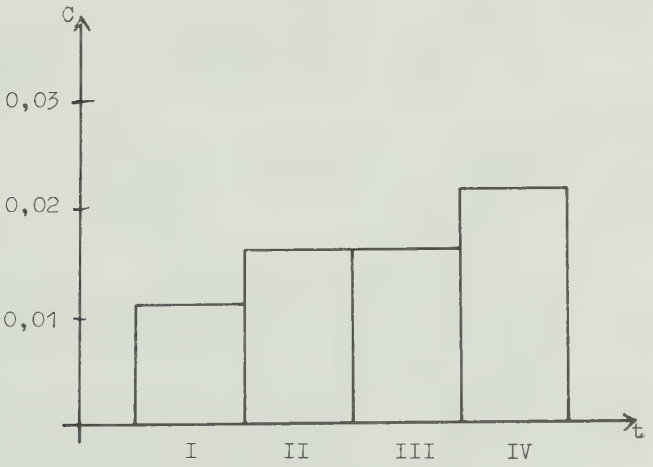
Kein Student - Fisher - Test

∝ - Ketoglutarat (Herniotomie, µMol/ml)



I/II	I/III	I/IV	II/III	II/IV	III/IV
s	s	s	ns	s	s

∝- Ketoglutarat (Cholecystektomie, µMol/ml)



I/II	I/III	I/IV	II/III	II/IV	III/IV
s	s	s	ns	s	s

Literaturverzeichnis

1. Atallah, M.M. and J.C. Geddes:
Halothane Metabolism During Clinical Anaesthesia on Pigs.
Brit. J. Anaesth. 44, 623 (1972)

2. Atnen, H.:
Wahrscheinlichkeitsrechnung und Statistik.
2. Auflage. Paderborn: Schroedel/Schöningh 1968

3. Bergmeyer, H.U. und Hrsg.:
Methoden der enzymatischen Analyse.
3. Auflage. Weinheim/B.: Verlag Chemie 1974

4. Bersin, Th.:
Biochemie der Mineral- und Spurenelemente.
Frankfurt/M.: Akad. Verl. Ges. 1963

5. Bessert, I und P. Rittmeyer:
Probleme der Behandlung von Elektrolyt- Bilanz- und Verteilungsstörungen in der chirurgischen Intensivmedizin unter besonderer Berücksichtigung von Inzolen.
Arzneimittelforschung, 22. Beiheft 197o

6. Bessert, I.:
Über klinische Erfahrungen mit K- Mg- Aspartat in der Anaesthesiologie.
Monographie zum K- Mg- Kolloquium, Bielefeld 197o

7. Birkner, K. und A. Lüdtke:
Die Wirkung von antiarrhythmischen Substanzen auf die Flimmerbereitschaft des Meerschweinchenherzens in Hypothermie unter besonderer Berücksichtigung von K- Mg- Aspartat.
Veröffentlichung in der Monographie zum K-

Mg- Aspartat Kolloquium, Bielefeld 1970

8. Blake, D.A.,J.Q. Barry and H.F. Cascorbi:
Qalitative Analysis of Halothane Metabolites in Man Anaesthesiology 36, 152-154 (1972)

9. Bock, H.E. Hrsg.:
Pathophysiologie
1. Auflage. Stuttgart: Thieme 1971

10. Boehringer Mannheim GmbH:
Enzymatische Bestimmungen von - Ketoglutarat im Blut.
1. Auflage. Mannheim: Biochemie 1970

11. Buddecke, E.:
Grundriss der Biochemie.
3. Auflage. Berlin - New York: de Gruyter 1973

12. Bünte, H.:
Der Energiehaushalt der chirurgischen Patienten.
Bruns Beitrag Klin.Chir. 216, 577-586 (1968)

13. Burkhardt, C.:
Konzentrationsbestimmungen der Metabolite des Citratcyclus im Blut bei Normalbedingungen und unter Einfluss von Halothane.
Inaugural Diss. Tübingen 1976

14. Cavalli - Sforza, L. und R.J. Lorenz:
Grundbegriffe der Biometrie.
Stuttgart: Gustav - Fischer 1973

15. Diem, K. und C. Lentner:
Documenta Geigy
Wissenschaftliche Tabellen
7. Auflage. Stuttgart: Thieme 1975

16. Dudziak, R., A. Fournell und O.A. Pantke:
Vergleich der Wirkung von Kaliumchlorid und

Kalium - Magnesium - Aspartat auf den Sauerstoffverbrauch und den Kaliumgehalt an isolierten Rattenherzen.
Veröffentlichung in der Monogrphie zum K - Mg - Aspartat Kolloquium, Düsseldorf 1969

17. Eschner, J., L. Fodor und F.W. Annefeld:
Intraoperative Elektrolytumverteilung unter besonderer Berücksichtigung des Na- K- Faktors und ihre Beeinflussung durch hochdosierte Gaben von Conreonate
Onne weitere Angaben

18. Fournell, A.:
Biochemische Grundlagen der Wirkung von K-Mg- Aspartat.
Arzneimittelforschung 22. Beiheft 1971

19. Grape, B.:
Konzentrationsbestimmungen der Metabolite Malat und Fumarat des Citratcyclus bei Cholecystektomie, bzw. Herniotomie unter Halothannarkose und intraoperativer Kalium - Magnesium - Aspartat - Infusion.
Inaugural Diss. Tübingen 1978

2o. Greene, N.M., F.J. Mackay und J.U.S. Bell:
Studies on Carbonydrate Metabolism During
Anaesthesiology 21, 1o1 - 1o2 (196o)

21. Heller, W., M. Higi, H. Junger und Ch. Stolz:
Altersabhängige Wechselwirkung von Kalium- und Magnesium- Aspartat während Allgemeinanästhesie.
Ein Beitrag zum Lactat-, Pyruvat- und ATP-Stoffwechsel.
Med. Welt 3, 114-118 (1975)

22. Heller, W., H. Junger und P. Kuhnle:
Das Verhalten des Citratcyclus im Konservenblut.
Erlangen: Vortrag gehalten auf dem Anästhesistenkongress 1974

23. Hengst, M.:
Einführung in die mathematische Statistik und ihre Anwendung.
Mannheim: Bibl. Institut, Hochschultaschenbücher 1967

24. Higi, M.:
Wechselwirkung von K- Mg- Aspartat während Allgemeinnarkose bei Cholezystektomie.
Ein Beitrag zum Lactat - Pyruvat und ATP Stoffwechsel.
Diss. 1975

25. Hoffmann, S.:
Erfahrungen mit K. Mg. -Aspartat (Inzolen) in der gynäkologischen Chirurgie.
Sonderdruck

26. Käser, H.:
Zur Technik der papierchromatographischen Trennung und Bestimmung der α - Ketosäure im Blut.
Clinica Chemica Acta Amsterdam 6, 337-346 (1961)

27. Karlson, P.:
Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
1o. Auflage. Stuttgart: Thieme 1976

28. Keidel, W.D.:
Kurzgefasstes Lehrbuch der Physiologie.
4. Auflage. Stuttgart: Thieme 1975

29. Keul, J.:
Der Einfluss von K- Mg- Aspartat bei langwäh-

renden körperlichen Belastungen.
Arzneimittelforschung, 22. Beiheft 197o

3o. Kuhnle, P.:
Das Verhalten der Substrate des Citratcyclus bei ACD- und CPD- stabilisierten Blutkonserven.
Diss. 1976

31. Kuschinsky, G.:
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie.
8. Auflage. Stuttgart: Thieme 1976

32. Loskant, G. und W. Hügin:
Der heutige Stand der Halothannarkose.
Anästhesist 9, 273-277 (196o)

33. Mendler, N., J. Sebening und K.P. Theobald:
Die Wirkung von K- Mg- Aspartat auf den Energiestoffwechsel im ischämischen Myocard.
Veröffentlichung in der Monographie zum K- Mg- Aspartat Kolloquium
Herausgegeben von R. Beer und U. Finsterer, München 197o

34. München, I.:
Möglichkeiten zur Verhütung und Therapie postoperativer Stoffwechselstörungen mit Inzellon.
Darmstadt 1968

35. München, I.:
Über die Bedeutung von K- Mg- Aspartat zur Behandlung von postoperativen Stoffwechselentgleisungen.
Monographie K- Mg- Aspartat Kolloquium, Düsseldorf 1969

36. München, I.:
Theoretische Grundlagen über Wirkungsweise von Aspartaten bei der Behandlung postopera-

tiver Stoffwechselstörungen mit besonderer Berücksichtigung des Kaliums im Zellstoffwechsel.
Hrsg. H. Menzel, Bielefelder Kolloquium, 197o

37. Nakahara, M., S. Yamadada, Y. Sakahashi, T. Tokit:
Die Effekte von K- Mg- Asparaginat auf die zelluläre Erschöpfung der Skelettmuskulatur und ihr Mechanismus.
Arzneimittelforschung 14, 1191-1198 (1964)

38. Nieper, H.A., K. Blumberger:
Experimentelle Grundlagen und klinische Anwendung von Elektrolytschlepperverbindungen.
Ärztliche Forschung 15, I/125 (1961)

39. Nieper, H.A., K. Blumberger:
Elektrolytschlepper im Experiment, Labor und Klinik.
Med. Welt 966, 1962

4o. Ollendiek, H.:
Untersuchungen über die Wirkung von Elektrolytschleppern bei operierten Patienten.
Med. Welt 1964, 1971

41. Rapoport, S.M.:
Medizinische Biochemie.
3. Auflage. Berlin: Volk und Gesundheit 1969

42. Richterich, R.:
Klinische Chemie.
3. Auflage. Basel: Karger 1971

43. Ruhstrat, K., M. Marcsek und P.Bierstedt:
Über die Wirkung von chelatbildenden K- Mg- und DL Asparaginaten auf Thrombocytenfunktion und Blutgerinnung.
Arzneimittelforschung 19, 1566-1569 (1966)

44. Sannig, H.:
Untersuchungen über die Beeinflussung des Energiestoffwechsels durch K- Mg- Aspartat während Allgemeinnarkose bei Herniotomie. Ein Beitrag zum Lactat-Pyruvat und -Adenosintriphosphatstoffwechsel.
Diss. 1974

45. Sebening, F., E. Struck und B. Reymann:
Kaliumsubstitution durch Kalium-Lactat oder Asparaginat bei Operationen mit Hilfe der Herz-Lungenmaschine.
Arzneimittelforschung 18, 347-35o (1968)

46. Siegenthaler, W. Hrsg.:
Klinische Pathophysiologie.
2. Auflage. Stuttgart: Thieme 1973

47. Staib, J. und M. Kretzschmar:
Messung der Elektrolytkonzentrationen in verschiedenen Gewegearten der Ratte und Verabreichung von K- Mg- Aspartat.
Arzneimittelforschung 18, 342-347 (1968)

48. Stolz, Ch., W. Helle:
Wirkung von Inzolen auf die aktiven Phosphate während chirurgischer Eingriffe.
Kolloquium Homburg 1972, Hrsg. K. Hutschenreuter

49. Stolz, Ch., Heller, W., S. Fisher, H. Kleinert:
Erfahrungen mit Inzolen bei der Intensivpflege nach chirurgischen Eingriffen.
Sonderdruck

5o. Struck, E., J. Heller, H. Hamelmann:
Zur Behandlung von Elektrolytstoffwechselstörungen nach abdominalchirurgischen Eingriffen.
Kolloquium Homburg 1972, Hrsg. K.Hutschenreuter

51. Teschke, R. und H. Oehmig:
Halothane und Fettstoffwechsel.
Anaest. 21, 171-177 (1972)

52. Voureih, G.:
Halothane-Narkose
Anaest. 7, 365-361 (1958)

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Heller und Herrn Priv. Doz. Dr. Junger danke ich für die Überlassung des Themas und die stets freundliche Beratung während der Entstehungszeit dieser Arbeit.

Danken möchte ich ebenfalls Herrn Dr. med. P. Kuhnle für manchen methodischen Hinweis.

Zuletzt möchte ich allen Patienten danken, die sich für die Untersuchung zur Verfügung gestellt haben und so mithalfen, die Arbeit entstehen zu lassen.

LEBENSLAUF

Am 16.7.1943 wurde ich, Christoph-Ekkehard Grape, als Sohn des Vikars Siegfried Grape und seiner Ehefrau Dorothea, geb. Fritz, in Halle/S. geboren.

Nach unserer Übersiedlung nach Stuttgart besuchte ich dort die Volksschule, später das Gymnasium und legte am 26.2.1964 das Abitur am Evangelisch Kirchlichen Aufbaugymnasium Michelbach/B. ab.

1963/64 besuchte ich den Sprachkurs der Ev. Landeskirche in Stuttgart, den ich mit dem Hebräicum und Graecum abschloss.

Ab Sommersemester 1965 Studium der evangelischen Theologie in Tübingen, Bonn und Zürich, das ich an der Universität Tübingen mit der ersten ev. theol. Dienstprüfung im Sommersemester 1969 abschloss.

Zum Wintersemester 1969/70 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Tübingen, wo ich am 18.12.1975 das medizinische Staatsexamen ablegte. Seither bin ich als Medizinalassistent bzw. Assistenzarzt tätig.